



TITLE:

イネ非自律性転移因子mPingの挿入が遺伝子の転写産物の構造に及ぼす効果(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

琴, 梨世

CITATION:

琴, 梨世. イネ非自律性転移因子mPingの挿入が遺伝子の転写産物の構造に及ぼす効果. 京都大学, 2016, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19782>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-03-22に公開

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	琴梨世
論文題目	イネ非自律性転移因子 <i>mPing</i> の挿入が遺伝子の転写産物の構造に及ぼす効果		
(論文内容の要旨)			
<p>真核生物の遺伝子発現は転写時および転写後の過程で様々に制御されている。転写後制御のなかでも選択的スプライシング (Alternative splicing, AS) および選択的ポリアダニル化 (Alternative polyadenylation, APA) は、転写産物の構造の多様化ならびに局在や安定性に関わる重要な制御機構である。ゲノム解析から、多くの真核生物において転写因子の挿入が遺伝子の転写後制御に及ぼす効果が明らかにされてきた。イネにおいても転移因子の一種である Miniature inverted repeat transposable elements (MITEs) の遺伝子領域への挿入が転写産物に AS や APA を提供する例が多数報告されている。しかし、これらの MITEs は既に転移活性を喪失してから年月を経て多くの塩基置換や再配列を含んでいるため、MITEs の挿入時点での転写産物への影響は未解明であった。本論文では、銀坊主ゲノムにおいて特異的に転移活性が高い MITE 因子 <i>miniature Ping</i> (<i>mPing</i>) を利用して、遺伝子領域への <i>mPing</i> 挿入が転写産物に及ぼす効果を詳細に解析した。</p>			
<p>1. <i>mPing</i> 挿入を有する変異遺伝子の転写産物の構造解析</p> <p>出穂期遺伝子 <i>Hd1</i> の第2イントロンに <i>mPing</i> 挿入がある場合、原品種と同じ構造をもつ転写産物には <i>mPing</i> 配列は含まれなかったが、AS によって生じた転写産物にはイントロンと <i>mPing</i> 配列を含むもの、<i>mPing</i> 内部に APA が生じたものが認められた。これらの結果から、イントロンへの <i>mPing</i> 挿入はスプライス部位を変更するとともに、<i>mPing</i> 内部の配列自体が APA を誘発することが明らかになった。さらに、<i>Rurm1</i> の第4エキソンおよび <i>Ehd1</i> の第2エキソンに <i>mPing</i> 挿入がある場合、正常型の転写産物以外にイントロン配列がエキソン化したもの、<i>mPing</i> 内部で APA が生じたもの、エキソンの一部欠失したものが含まれていた。</p>			
<p>2. AS および APA を誘発する <i>mPing</i> 上の配列</p> <p><i>mPing</i> 配列上には既知のポリアダニル化シグナル配列がプラス鎖に7個、マイナス鎖に6個存在している。前述の構造変異をもつ転写産物のなかには、これらのシグナル配列によって誘発されたもの以外に、<i>mPing</i> 配列上の未知のシグナル配列によってポリアダニル化が生じた産物も認められた。したがって、<i>mPing</i> 配列上には、既知だけでなく未知のポリアダニル化シグナル配列があると推察された。また、<i>mPing</i> 内部には未成熟終始コドン (Pre-mature termination codon) となり得る配列がプラス鎖に23個、マイナス鎖に17個確認できる。<i>mPing</i> 内部で PTC とともに APA が誘導された場合、PTC は末尾のエクソンに生じることになり、Nonsense mediated decay (NMD) による分解を免れる。さらに、<i>Hd1</i> の第2イントロンへの <i>mPing</i> 挿入をもつ変異遺伝子 <i>Hd1</i> と野生型 <i>Hd1</i> のメチル化程度を解析した結果、エキソン化していた <i>mPing</i> 配列および、<i>mPing</i> の5'側の隣接領域のメチル化程度が上昇した。<i>mPing</i> 挿入による AS には <i>mPing</i> 自体のメチル化程度が影響している可能性が確認できた。</p>			
<p>3. <i>mPing</i> 挿入を有する遺伝子に由来する転写産物の網羅解析</p> <p>表現型の変異を伴う突然変異遺伝子を用いた解析では、突然変異遺伝子において <i>mPing</i> 挿入による転写制御や転写後制御が観察されるのが自然である。銀坊主ゲノムには500</p>			

コピー以上の *mPing* が存在し転移していることから、*mPing* 挿入の効果は *mPing* 挿入を有する遺伝子からの転写産物を網羅的に解析して評価する必要がある。このために、まず同一親個体に由来する銀坊主3個体の *mPing* 隣接配列を次世代シーケンス解析することにより、*mPing* 挿入箇所を特定した。その結果、遺伝子内部への *mPing* 挿入として、3個体共通のものが90個、3個体それぞれに特異的な挿入が26個、17個および27個同定された。つぎに、同じ3個体の第3葉から抽出したRNAを用いてRNAseq解析を行った結果、共通して *mPing* 挿入が見出された90個の遺伝子に関して、転写産物が検出された83個中21個で *mPing* 挿入に起因するASもしくはAPAが確認できた。これに対して、個体特異的な *mPing* 挿入を有する合計71個の遺伝子に関しては、転写産物が確認できた66個中19個で *mPing* 挿入に起因するASもしくはAPAが確認できた。さらに、ASもしくはAPAが確認された40個の遺伝子中28個はイントロンに *mPing* 挿入があり、正常型転写産物のほうが *mPing* 挿入によって生じた転写産物よりも発現量が多い傾向が認められた。以上のことから、銀坊主ゲノムにおいて遺伝子内への *mPing* 挿入の直接的な効果によりASやAPAが誘発される場合があること、*mPing* 挿入による転写産物の構造変異が生じても正常型の転写産物の発現を大きく損なわない場合が多いことが判明した。

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

近年のゲノム解析により非自律性転移因子 MITE が真核生物のゲノムに及ぼす様々な効果が明らかにされつつあるが、挿入された MITE の多くが転移活性を失って多数の突然変異を内部に生じているため、挿入自体の効果と挿入後に生じた塩基配列による効果とを判別することは困難である。本研究は、イネ品種銀坊主で特異的に高い転移活性を示す非自律性転移因子 *mPing* を利用して、*mPing* の遺伝子内への挿入が遺伝子の転写産物に及ぼす効果を直接明らかにしようとしたものであり、評価できる主要な点は以下の通りである。

1. *mPing* 挿入によって表現型変異が誘発された突然変異遺伝子の転写産物の構造を明らかにして、野生型対立遺伝子と同じ転写産物以外に、*mPing* 挿入に起因する選択的スプライシングおよび選択的ポリアデニル化に由来する転写産物の構造を明らかにした。
2. *mPing* 内部配列の詳細な検討により、*mPing* 上に存在する選択的スプライシングおよび選択的ポリアデニル化を誘発する既知ならびに未知の配列の存在を明らかにした。さらに、*mPing* 自体のメチル化程度も転写産物の構造変化に大きく影響することを明らかにした。
3. *mPing* 挿入をもつ遺伝子の転写産物をゲノムワイドに解析することにより、*mPing* の遺伝子内への挿入があっても転写産物に変化がない遺伝子も多数あること、多くの場合 *mPing* 挿入によって生じた選択的スプライシングや選択的ポリアデニル化に由来する転写産物の発現量は正常型転写産物の発現量よりも少ないことを明らかにした。

以上のように、本論文は転移因子 *mPing* の挿入がイネの遺伝子の転写産物の構造に及ぼす効果を突然変異遺伝子の転写産物解析および次世代シーケンス解析を利用した網羅的解析により明らかにしたものであり、育種学、作物学、植物遺伝学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年2月9日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）